斜纹夜蛾性信息素通讯系统

孙　凡[1]，胡隐月[1]，杜家纬[2]
（1. 东北林业大学森林资源与环境学院，哈尔滨　150040；2. 中国科学院上海昆虫研究所，上海　200025）

摘要：采用单雌腺体微量分析技术，对斜纹夜蛾（中国种群）雌蛾腺体的组份进行鉴定，并研究了各组份的个体差异及释放规律，测试了雄蛾对各组份及其混合物的触角电位反应。雌蛾腺体内含有 4 个组份：Z9，E11-14：Ac（A）、Z9，E12-14：Ac（B）、Z9-14：Ac（C）和 E11-14：Ac（D），其比例为 100：27：20：27。

关键词：斜纹夜蛾；性信息素；通讯系统；触角电位
中图分类号：Q965　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296（2002）03-0404-04

The sex pheromone communication system of *Spodoptera litura*（Fabricius）

SUN Fan[1]，HU Yin-Yue，DU Jia-Wei[2]（1. College of Forest Resources and Environment，Northeast Forestry University，Harbin　150040，China；2. Shanghai Institute of Entomology，Chinese Academy of Sciences，Shanghai　200025，China）

Abstract：The sex pheromone components of *Spodoptera litura* from China were identified by using analytical technique of single female sex pheromone gland. The individual differences，daily changes and scotophase rhythms of these components were studied. Electroantennogram（EAG）responses of male to these components and its mixture were recorded. Four components，Z9，E11-14：Ac（A），Z9，E12-14：Ac（B），Z9-14：Ac（C）and E11-14：Ac（D），were found in the female sex pheromone gland at a ratio of 100：27：20：27.

Key words：*Spodoptera litura*；sex pheromone；communication system；EAG bioassay

斜纹夜蛾 *Spodoptera litura*（Fabricius）是一种杂食性、暴食性食叶害虫，寄主植物达 99 科 290 余种，可危害多种蔬菜、烟草、棉花等经济作物。由于多年来采用单一化学药剂来控制斜纹夜蛾的危害，导致其抗药性提高。Tamaki 等（1973，1976）首先鉴定出斜纹夜蛾处女雌蛾腹末粗提物内的 4 个组份：Z9，E11-14：Ac，Z9，E12-14：Ac，Z9-14：Ac 和 E11-14：Ac，但因受当时实验手段限制，对其性信息素通讯系统缺乏全面深入的了解。本文作者采用单雌腺体微量分析技术，对斜纹夜蛾（中国种群）性信息素通讯系统进行深入研究，并记录了雄蛾对雌蛾腺体内各组份及混合物的触角电位反应（electroantennagram，EAG），为在我国利用性信息素监测及控制其种群提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　供试昆虫

在上海市郊松江县的蔬菜大棚中采集斜纹夜蛾幼虫，带回实验室用人工饲料饲养。养虫室光周期为 L：D＝14：10，饲养温度为 25±1℃，相对湿度约 80%。化蛹后雌雄分开，羽化后的成虫供以 10% 蔗糖水。

1.2　试剂

Z9，E11-14：Ac 和 Z9，E12-14：Ac 的人工合成品由日本 SHIN-ETSU 化学有限公司合成，Z9-14：Ac 和 E11-14：Ac 的人工合成品由中国科学院上海昆虫研究所化学生态实验室合成，经带无分流进样装置的气相色谱仪（毛细管柱 HP-FFAP，25 m×0.2 mm

---

第一作者简介：孙凡，女，1971 年 6 月生，黑龙江伊春人，博士，讲师，研究方向为昆虫化学生态，E-mail：sunf779@sohu.com

收稿日期 Received：2001-12-20；接受日期 Accepted：2002-04-30

×0.2 μm，美国惠普公司）检测分析，4 种化合物的人工合成品纯度均达到 95% 以上。稀释化合物的溶剂采用重蒸正己烷。

1.3 雌蛾求偶规律观察

将新羽化雌蛾置于马灯罩内，每罩 1 头，罩内放蘸有 10% 蔗糖水的脱脂棉球，以供雌蛾补充营养，从羽化后第一天暗期前 1 h 到暗期后 1 h，每 30 min 观察一次各马灯罩内雌蛾的求偶情况，暗期观察时照明用红色光小手电。判定雌蛾求偶行为的标准是产卵器外伸，持续暴露性信息素腺体。

1.4 单雌性信息素腺体超微量分析技术

取出求偶处女蛾，用手轻轻挤压雌蛾腹部，迫其伸出性信息素腺体，用手术剪将腺体剪下，置于滤纸上，压挤去除体液，然后将腺体放入微型尖底玻管中，注入 10 μL 重蒸正己烷浸提。为保证浸提液的体积不变，将微型尖底玻管放入带密封螺帽的样品瓶内，并在瓶内注入 100 μL 正己烷。1 h 后将全部浸提液进气相色谱分析。气相色谱条件：采用带无分流进样装置的毛细管气相色谱仪（HP-5890），氢离子火焰检测器，进样器和检测器温度均为 250℃，氮气作载气，柱前压 90 kPa。气谱升温条件：起始温度 100℃，保持 2 min，而后以 10 ℃/min 的升温速率升至 200℃。化学结构分析采用对照样品与合成标准品在不同极性毛细管柱 HP5（25 m×0.2 mm×0.33 μm，美国惠普公司）及 HP-FFAP（25 m×0.2 mm×0.2 μm，美国惠普公司）上保留时间的方法，组份定量用内标法。

1.5 雌蛾性信息素通讯系统的研究

在暗期 8 h，测定 20 头 3 日龄处女雌蛾腺体内各组份滴度，以研究各组份滴度与比例的个体差异；在暗期 8 h，分别测定 1、2、3、4、及 5 日龄处女雌蛾腺体内各组份滴度，以研究雌蛾性信息素通讯系统与日龄的关系；采用 3 日龄处女蛾，分别在暗期 2 h、4 h、6 h、8 h、10 h 及光期 2 h、4 h 测定单头处女雌蛾腺体内各组份滴度，以研究雌蛾性信息素通讯系统的时辰变动节律。

1.6 触角电位反应条件及生测方法

触角电位测试仪结构见于杜家纬报道（杜家纬，1988），吹向触角的空气经 4 埃分子筛和颗粒状活性碳及硅胶过滤器净化，净化过的空气经润湿器使空气带有一定湿度。通气管中空气流速为 300 mL/min，气流口离触角距离为 1 cm。待测样品用重蒸正己烷分别配制成需要的浓度及比例，并在带无分流进样装置的气相色谱上检测溶液浓度及混合物比例。加样时，把 1 μg 待测样品（混合物以组份 A 的含量为准）加到直径为 0.5 cm 的圆滤纸片上，然后将滤纸片装入不同的样品管。空白样品中加入等体积的重蒸正己烷。测试时，每次加入含待测样品的空气 2 mL。每测一个样品前，测一次空白对照，样品的反应值减去空白值，就是触角对刺激物的净反应。

2 结果与分析

2.1 雌蛾求偶规律

雌蛾羽化后第一天求偶个体数较少，2～4 日龄是求偶高峰期，4 日龄以后因部分雌蛾产卵而使求偶率下降。每日求偶在暗期开始后 6 h 至暗期结束，暗期 8～9 h 是求偶高峰期（图 1）。

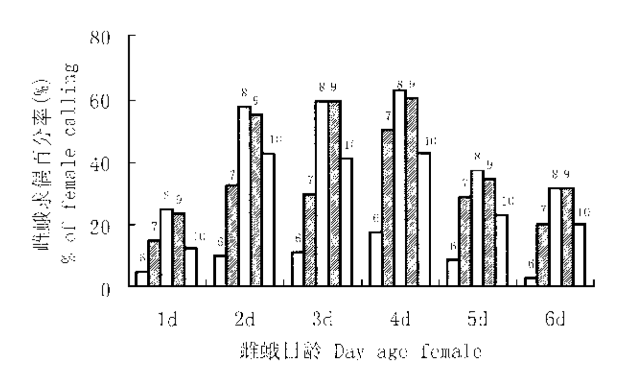


图 1 雌蛾求偶规律图

Fig. 1 The rhythm of *S. litura* female calling behavior

柱形图上方数字表示进入暗期的时间（h）

Numbers on the bars indicate the hours after light-off

2.2 雌蛾性信息素腺体内组份的定性定量分析

单个雌蛾性信息素腺体提取物经气相色谱仪分离后，在不同极性毛管柱上均形成保留时间不同的 4 个峰，与合成标准品的保留时间核对，这 4 个峰在两种不同极性毛细管柱上的保留时间分别与 Z9，E11-14:Ac（A）、Z9，E12-14:Ac（B）、Z9-14:Ac（C）和 E11-14:Ac（D）的保留时间相一致，证明雌蛾腺体内含有这 4 个化合物。根据所记录的峰面积值，这 4 个组份在雌蛾性信息素腺体内的比例平均为 100:27:20:27（A:B:C:D）（*N* = 20）。

2.3 雌蛾性信息素腺体内组份滴度及比例的个体变异

A、B、C、D 四组份滴度的变差系数均大于 10%，说明腺体内组份含量的个体差异较大。各组份与 A 组份比例的变差系数亦均大于 10%，说明雌蛾性信息素通信信道控制在较宽的范围内（表 1）。

表1 雌蛾腺体内各组份滴度及比例的个体变差系数

Table 1 The CV（%）of titers and ratios of components in female sex pheromone gland among the individuals

	滴度 Titer				各组份与A组份的比例 Ratio of two components		
	A	B	C	D	B/A	C/A	D/A
变差系数 CV（%）	36.9	44.2	59.3	51.8	18.7	29.8	29.5

$N=20$ 代表重复个体数（以下同）。两组份比例的数据经反正弦函数转换后再求其变差系数

$N=20$ indicate the number of replicates (the same below). The figures of rations were transformed by Function-Arssin

2.4 雌蛾日龄与雌蛾腺体内组份滴度及两组份比例的关系

与雌蛾求偶规律不同，1~4日龄雌蛾腺体各组份滴度维持在较高水平，而5日龄各组份的滴度下降。不同日龄雌蛾腺体内A与B两组份的比例无差异（表2）。

表2 不同日龄雌蛾腺体内各组份滴度及两组份比例（平均值±标准差，$N=15$）

Table 2 The sex pheromone titers and ratios of its two components of different day-age females（Mean ± *SD*，$N=15$）

雌蛾日龄 Day-age female	A (ng)	B (ng)	C (ng)	D (ng)	B/A (%)
1	6.3±2.5	1.5±0.8	1.4±1.1	1.8±1.2	26.2±9.6 a
2	7.4±3.2	1.7±0.7	1.9±0.9	1.6±1.3	24.1±7.1 a
3	6.1±2.1	1.6±0.7	1.2±0.7	1.6±0.9	27.7±10.4 a
4	5.7±1.7	1.5±0.8	1.3±0.8	0.8±0.6	28.2±9.3 a
5	3.8±2.1	1.1±0.8	0.6±0.2	0.7±0.4	25.3±9.1 a

同一栏内数字后带相同字母表示经方差分析相互间差异不显著，q 检验（$\alpha=0.05$）Figures in the same column followed by the same letter are not significantly different by q test ($\alpha=0.05$)。下同 The same below

2.5 雌蛾性信息素腺体内组份滴度及两组份比例的时辰节律

进入暗期后，雌蛾腺体内的组份滴度呈逐渐上升趋势，暗期8 h时，组份A的滴度达高峰，虽然雌蛾只在暗期6~10 h内求偶，但暗期6 h前及光期2 h腺体内各组份的滴度仍可维持在一定的水平。在不同的光周期时段，雌蛾腺体内A与B的比例也有所变化，暗期2 h和8 h腺体内A与B两组份的比例明显大于其它暗期时段；而光期2 h腺体内A与B两组份的比例明显小于暗期时段（表3）。

表3 不同时辰的雌蛾腺体内各组份滴度及两组份比例（平均值±标准差，$N=15$）

Table 3 The sex pheromone titers and ratios of its two components of females at different time in photoperiodic（Mean ± *SD*，$N=15$）

光周期时段 Hours in photoperiod	A (ng)	B (ng)	C (ng)	D (ng)	B/A (%)
D:2	3.8±1.6	1.1±0.7	0.4±0.3	0.6±0.7	26.1±8.8 a
D:4	3.2±1.0	1.2±0.4	0.8±0.5	0.7±0.5	36.2±10.6 b
D:6	4.8±2.1	1.5±0.9	1.5±1.1	1.4±0.7	36.8±11.7 b
D:8	6.1±2.2	1.6±0.7	1.2±0.7	1.6±0.9	27.7±10.4 a
D:10	4.5±2.4	1.3±0.8	1.5±1.7	1.4±1.2	30.4±11.2 ab
L:2	3.4±1.1	1.3±0.7	1.3±0.7	0.8±0.5	43.1±24.1 c
L:4	0.8±0.4	—	—	—	—

D、L分别表示暗期和光期 D and L represent dark and light period, respectively

2.6 雄蛾对雌蛾腺体内各组份及混合物的EAG反应

雄蛾对A组份的EAG反应值高于B组份，而对C、D组份均无反应。不同比例的A、B两组份混合物引起雄蛾EAG反应值与单一的A组份相当，在A、B混合物中，分别加入雌蛾腺体内天然比例的C、D和同时加入C、D对雄蛾的EAG反应无影响。在A、B混合物中，分别加入占混合物总量

50%的C、D对雄蛾的EAG反应仍无影响（表4）。

表4 雄蛾对雌蛾腺体内各组份及混合物的EAG反应（平均值±标准差，$N=6$）

Table 4 EAG response to components and mixtures in female sex pheromone gland（Mean± *SD*，$N=6$）

测试样品 Blend	EAG反应值（mV） EAG response
A	0.69±0.07 a
B	0.37±0.03 b
C	0
D	0
A+B（1:1）	0.67±0.04 a
A+B（3:1）	0.70±0.06 a
A+B（5:1）	0.69±0.05 a
A+B（7:1）	0.68±0.05 a
A+B（9:1）	0.69±0.05 a
A+B+C（3:1:1）	0.65±0.03 a
A+B+D（3:1:1）	0.67±0.05 a
A+B+C+D（3:1:1:1）	0.68±0.06 a
A+B+C（3:1:2）	0.66±0.04 a
A+B+D（3:1:2）	0.68±0.05 a

3 讨论

本研究采用单雌腺体微量分析技术，检测到斜纹夜蛾中国种群性信息高峰期雌蛾腺体内A与B比例为100:27，但对日本种群的研究表明，无论是实验室生测还是田间诱捕试验，对雄蛾活性最佳比例为9:1（A:B）（Tamaki *et al*.，1974；Yushima *et al*.，1974）。其原因是种群间存在差异，还是雌蛾化学通讯系统与雄蛾行为反应存在差异？这个问题将在以后的生测实验中继续探讨。

在多种以顺反异构体为性信息素的昆虫中发现，同种个体间化学通信信号具狭窄的变异（变异系数为10%CV）（Miller *et al*.，1980；韩桂彪等，1999），但在一些以位置异构体为性信息素组份的昆虫中发现，其各组份比例间的个体差异常常大于10%CV（Du *et al*.，1987），斜纹夜蛾雌蛾性信息通信信道较宽也证实了这一点。

斜纹夜蛾雌蛾求偶活性与性信息素滴度日节律、时节律都存在着明显差异。这种雌蛾求偶行为与性信息素释放不一致的现象也出现在其它蛾类的研究中，其原因可能是雌蛾的这两种行为由不同的系统分别控制（Kamimura *et al*.，1993）。

本研究中，只记录到雄蛾对A、B两组份的EAG反应，C、D组份不能引起雄蛾的EAG反应，将C、D组份加入A、B混合物中对雄蛾EAG反应亦无影响，C、D组份的作用将在以后风洞生测中进一步研究。

参 考 文 献（References）

Du J W，Löfstedt C，Löfqvist J，1987. Repeatability of pheromone pattern released by the same individual female，*Yponomeuta padellus* and *Y. rorellus* during adult stages. *J. Chem. Ecol*.，13：1 431－1 441.

Du J W，1988. Insect Pheromone and Its Application. Beijing：China Forestry Press. 114－115.［杜家纬，1988. 昆虫信息素及其应用. 北京：中国林业出版社. 114－115］

Han G B，Ma R Y，Du J W，Hu C，Li L C，1999. The sex pheromone communication system of adult jujube leafroller *Ancylis sativa*. *Acta Entomol. Sin*.，42（1）：25－29.［韩桂彪，马瑞燕，杜家纬，胡萃，李连昌，1999. 枣镰翅小卷蛾性信息素通讯系统. 昆虫学报，42（1）：25－29］

Kamimura M，Tatsuki S，1993. Diel rhythms of calling behavior and pheromone production of oriental tobacco budworm moth，*Helicoverpa assulta*（Lepidoptera：Noctuidae）. *J. Chem. Ecol*.，19（12）：2 953－2 963.

Miller J R，Roelofs W L，1980. Individual variation in sex pheromone component ratios in two populations of the redbanded leafroller moth. *Environ. Entomol*.，9（3）：359－363.

Tamaki Y，Noguchi H，Yushima T，1973. Sex pheromone of *Spodoptera litura*（F.）（Lepidoptera：Noctuidae）：isolation，identification and synthesis. *Appl. Ent. Zool*.，8：200－203.

Tamaki Y，Osawa T，Yushima T，Noguchi H，1976. Sex pheromone and related compounds secreted by the virgin female of *Spodoptera litura*（F.）. *Jap. J. Appl. Ent. Zool*.，20：81－86.

Tamaki Y，Yushima T，1974. Biological activity of the synthesized sex pheromone and its geometrical isomers of *Spodoptera litura*（F.）（Lepidoptera：Noctuidae）. *Appl. Ent. Zool*.，9（2）：73－79.

Yushima T，Tamaki Y，Kamano S，Oyama M，1974. Field evaluation of a synthetic sex pheromone "Litura" as an attractant for males of *Spodoptera litura*（F.）（Lepidoptera：Noctuidae）. *Appl. Ent. Zool*.，9（3）：147－152.